

FR.00/01731



REC'D 02 AUG 2000	
WIPO	PCT

BREVET D'INVENTION

4

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le **02 MARS 2000**

Pour le Directeur général de l'Institut
national de la propriété industrielle
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIÉTÉ
INDUSTRIELLE

SIEGE

26 bis, rue de Saint Petersburg
75800 PARIS Cédex 08
Téléphone : 01 53 04 53 04
Télécopie : 01 42 93 59 30

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08
Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 93 59 30

Confirmation d'un dépôt par télécopie. ☐

Cet imprimé est à remplir à l'encre noire en lettres capitales

Réservé à l'INPI

DATE DE REMISE DES PIÈCES **23 JUIN 1999**
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL **9908010**
DÉPARTEMENT DE DÉPÔT **75 INPI PARIS**
DATE DE DÉPÔT **23 JUIN 1999**

1 NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE
À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE

ADIR ET COMPAGNIE
1, rue Carle Hébert
92415 COURBEVOIE Cedex

2 DEMANDE Nature du titre de propriété industrielle

- ☒ brevet d'invention ☐ demande divisionnaire
☐ certificat d'utilité ☐ transformation d'une demande de brevet européen

☒ demande initiale
☒ brevet d'invention

n° du pouvoir permanent références du correspondant téléphone
VECTOR-1 01.55.72.60.00

Établissement du rapport de recherche

☐ différé ☐ immédiat

Le demandeur, personne physique, requiert le paiement échelonné de la redevance ☐ oui ☐ non

Titre de l'invention (200 caractères maximum)

Nouveaux dérivés d'ammonium quaternaire, leur procédé de préparation et les compositions pharmaceutiques qui les contiennent.

3 DEMANDEUR (S) n° SIREN code APE-NAF

Nom et prénoms (souligner le nom patronymique) ou dénomination

- ADIR ET COMPAGNIE
1, rue Carle Hébert 92415 COURBEVOIE Cedex
- INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA RECHERCHE MEDICALE
101, rue de Tolbiac 75654 PARIS Cedex 13

Forme juridique

Nationalité (s) **FRANCAISES**

Adresse (s) complète (s)

- ADIR ET COMPAGNIE
1, rue Carle Hébert 92415 COURBEVOIE Cedex
- INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA RECHERCHE MEDICALE
101, rue de Tolbiac 75654 PARIS Cedex 13

Pays

FRANCE

FRANCE

En cas d'insuffisance de place, poursuivre sur papier libre ☐

4 INVENTEUR (S) Les inventeurs sont les demandeurs ☐ oui ☒ non Si la réponse est non, fournir une désignation séparée

5 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES ☐ requise pour la 1ère fois ☐ requise antérieurement au dépôt : joindre copie de la décision d'admission

6 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE

pays d'origine numéro date de dépôt nature de la demande

7 DIVISIONS antérieures à la présente demande n° date n° date

8 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE
(nom et qualité du signataire)

SIGNATURE DU PRÉPOSÉ À LA RÉCEPTION SIGNATURE APRÈS ENREGISTREMENT DE LA DEMANDE À L'INPI

S. JAGUELIN-GUINAWANT, Ingénieur Brevets

DÉSIGNATION DE L'INVENTEUR

(si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)

DEPARTEMENT DES BREVETS

26bis, rue de Saint-Petersbourg

75800 Paris Cédex 08

Tél. : 01 53 04 53 04 - Télécopie : 01 42 93 59 30

N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL

990 8020

TITRE DE L'INVENTION :

Nouveaux dérivés d'ammonium quaternaire, leur procédé de préparation et les compositions pharmaceutiques qui les contiennent.

LE(S) SOUSSIGNÉ(S)

ADIR ET COMPAGNIE
1, rue Carle Hébert
92415 COURBEVOIE Cedex

et

INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET
DE LA RECHERCHE MEDICALE
101, rue de Tolbiac
75654 PARIS Cedex 13

DÉSIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) (indiquer nom, prénoms, adresse et souligner le nom patronymique) :

Jean-Claude MADELMONT : 32, boulevard du Chauffour 63540 ROMAGNAT (FR)

Isabelle GIRAUD : 17, rue Poncillon 63000 CLERMONT-FERRAND (FR)

Colette NICOLAS : 1, route de Paris 63200 LE CHEIX-SUR-MORGE (Fr)

Jean-Claude MAURIZIS : 3, impasse Lamartine 63170 PERIGNAT-LES-SARLIEVE (FR)

Maryse RAPP : 3, allée des Figueurs 63960 VEYRE-MONTON (FR)

Monique OLIER : 6, rue des caves 63540 ROMAGNAT (FR)

Pierre RENARD : 3, avenue du Parc 78150 LE CHESNAY (FR)

Daniel-Henri CAIGNARD : 22, avenue de la République 78230 LE PECQ (FR)

NOTA : A titre exceptionnel, le nom de l'inventeur peut être suivi de celui de la société à laquelle il appartient (société d'appartenance) lorsque celle-ci est différente de la société déposante ou titulaire.

Date et signature (s) du (des) demandeur (s) ou du mandataire


Sylvie JAGUELIN-GUINAMANT, Ingénieur Brevets

La présente invention concerne de nouveaux dérivés d'ammonium quaternaire, leur procédé de préparation et les compositions pharmaceutiques qui les contiennent.

5 Ces nouveaux dérivés d'ammonium quaternaire permettent la vectorisation dans les tissus cartilagineux de principes actifs et ainsi le traitement des pathologies dues à une atteinte du cartilage qu'il s'agisse de pathologies articulaires ou cancéreuses. Ils peuvent être également utilisés à titre de réactifs de diagnostic, capables notamment de révéler une pathologie du cartilage ou un métabolisme (marqueur radioactif, marqueur coloré, ...).

10 Les agents thérapeutiques actuellement commercialisés pour le traitement des pathologies articulaires comme l'arthrite ou l'arthrose présentent en général une faible affinité pour les tissus cibles et nécessitent des administrations à doses élevées pour obtenir l'effet thérapeutique souhaité.

Ces administrations à forte dose de principes actifs ont pour conséquence une augmentation de la fréquence des effets secondaires. Il est notamment connu que la prise d'anti-inflammatoires non stéroïdiens provoque une importante toxicité digestive.

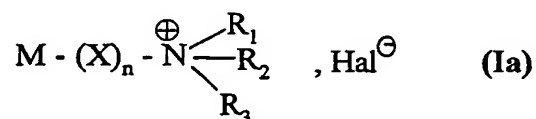
15 Dans le domaine de la cancérologie osseuse, il est également connu que les agents thérapeutiques actuellement utilisés pour le traitement des chondrosarcomes notamment présentent des effets secondaires indésirables, en particulier des toxicités notamment hématologiques ou non.

20 Enfin, dans le domaine des produits de diagnostics des pathologies cartilagineuses, les produits utilisés actuellement présentent l'inconvénient de manquer de spécificité pour les cibles visées.

25 Il était donc particulièrement intéressant de fonctionnaliser ces différents types de composés de façon à atteindre de manière ciblée le tissu cartilagineux et ainsi de limiter, voire de supprimer, les effets indésirables observés lorsque ces composés sont administrés directement.

Les nouveaux composés, objets de la présente invention, permettent, à la fois par l'augmentation du tropisme et par la diminution des doses administrées, d'atténuer significativement les effets secondaires et de renforcer l'index thérapeutique des molécules actives.

- 5 Plus spécifiquement, la présente invention concerne les composés de formule répondant à l'une des formules (Ia) ou (Ib) :



dans laquelle :

- M représente une molécule utilisable pour la thérapie ou le diagnostic des pathologies dues à une atteinte du cartilage,

R₁, R₂, R₃, identiques ou différents, représentent un groupement alkyle (C₁-C₆) linéaire ou ramifié,

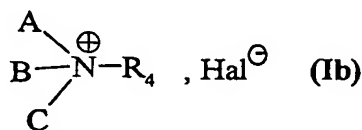
ou R₁, R₂, R₃ pris ensemble avec l'atome d'azote qui les porte forment un hétérocycle azoté saturé ou insaturé,

- 15 X représente une chaîne alkylène (C₁-C₆) linéaire ou ramifiée dans laquelle un ou plusieurs groupements -CH₂- sont éventuellement remplacés par un atome de soufre, d'oxygène, un groupement -NR- (dans lequel R représente un groupement alkyle (C₁-C₆) linéaire ou ramifié), un groupement -CO-, un groupement -CO-NH-, un groupement -CO₂-, un groupement -SO- ou un groupement -SO₂-,

- 20 n représente 0 ou 1,

Hal représente un atome d'halogène,

ou,



R₄ représente un groupement alkyle (C₁-C₆) linéaire ou ramifié,

- 25 Hal représente un atome d'halogène,

$\begin{array}{c} \text{A} \\ \diagdown \\ \text{B}-\text{N} \\ \diagup \\ \text{C} \end{array}$ représente une molécule utilisable pour la thérapie ou le diagnostic des pathologies dues à une atteinte du cartilage, étant entendu que l'atome d'azote peut être éventuellement inclus dans un système hétérocyclique azoté saturé ou insaturé, ou engagé dans une double liaison.

5 Préférentiellement, les composés de formule (Ia) sont les composés tels que :

n est égal à 1,

X représente une chaîne alkylène ($\text{C}_1\text{-C}_6$) linéaire ou ramifiée, un groupement $\text{-NR-(CH}_2\text{)}_m\text{-}$ (dans lequel R est tel que défini précédemment), un groupement $\text{-CO-(CH}_2\text{)}_m\text{-}$, ou un groupement $\text{-CO-NH-(CH}_2\text{)}_m\text{-}$, dans lesquels m représente un nombre entier compris entre 1 et 5 inclus.

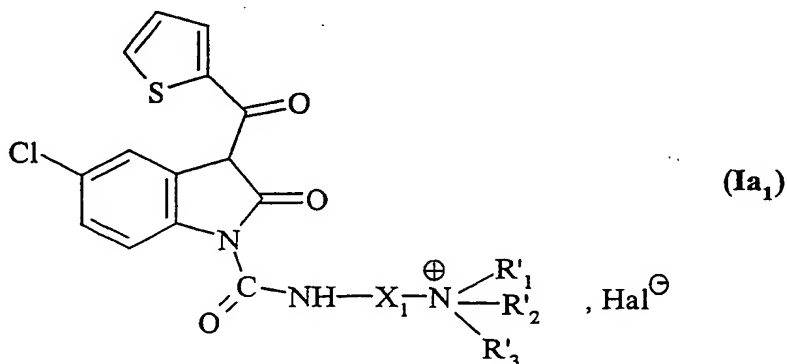
R_1 , R_2 , R_3 dans les composés de formule (Ia) sont préférentiellement les groupements, identiques ou différents, alkyles ($\text{C}_1\text{-C}_6$) linéaires ou ramifiés, ou bien sont tels qu'ils forment avec l'atome d'azote qui les porte un cycle pyridine ou pipéridine (et dans ce cas, l'un de ces groupements représente un groupement alkyle ($\text{C}_1\text{-C}_6$) linéaire ou ramifié).

Les molécules M ou $\begin{array}{c} \text{A} \\ \diagdown \\ \text{B}-\text{N} \\ \diagup \\ \text{C} \end{array}$ utilisables pour la thérapie ou le diagnostic des pathologies

ou le diagnostic des pathologies dues à une atteinte du cartilage sont plus particulièrement : les anti-inflammatoires, les antiarthritiques, les antiarthrosiques, les analgésiques, ou les antitumoraux spécifiques.

Les composés préférés de formule (Ia) utilisés à titre de principe actif sont :

* les molécules dérivées du *Tenidap* de formule (Ia_1) :



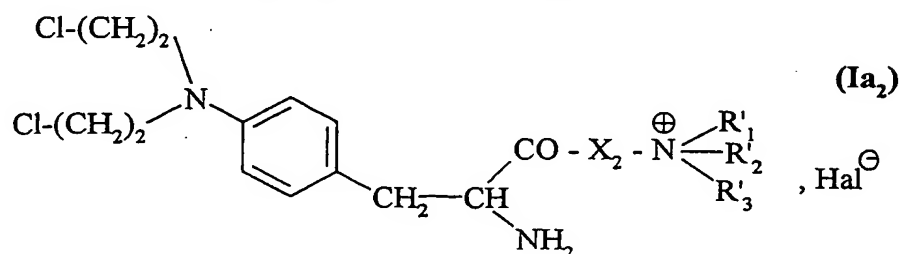
dans laquelle :

X_1 représente un groupement alkylène (C_1-C_6) linéaire ou ramifié,

R'_1, R'_2, R'_3 , identiques ou différents, représentent un groupement alkyle (C_1-C_6) linéaire ou ramifié,

5 Hal représente un atome d'halogène,

× les molécules dérivées du *Melphalan* de formule (**Ia₂**) :



dans laquelle :

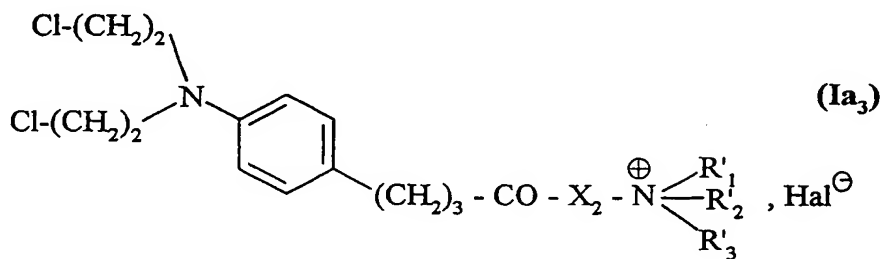
X_2 représente un groupement $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_m-$ dans lequel m est tel que défini précédemment,

10

R'_1, R'_2, R'_3 , sont tels que définis précédemment,

Hal représente un atome d'halogène,

× les molécules dérivées du *Chlorambucil* de formule (**Ia₃**) ;



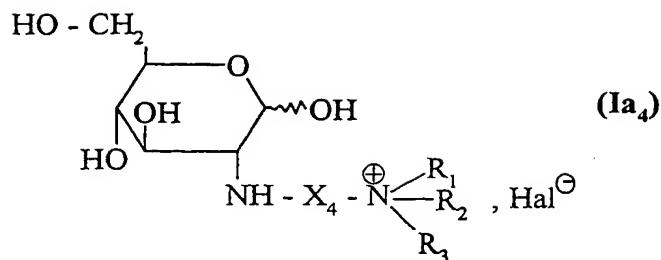
15

dans laquelle :

X_2, R'_1, R'_2, R'_3 sont tels que définis précédemment,

Hal représente un atome d'halogène,

× les molécules dérivées de la *Glucosamine* de formule (**Ia₄**) :



dans laquelle :

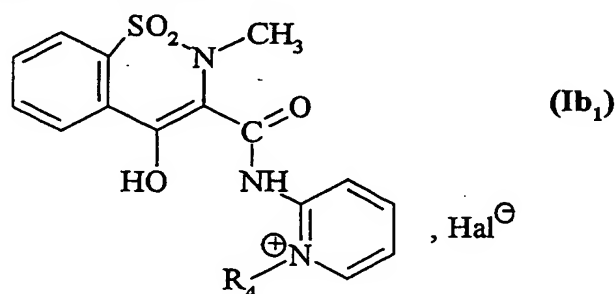
X₄ représente un groupement -CO-(CH₂)_m- dans lequel m est tel que défini précédemment,

5 R₁, R₂, R₃ sont tels que définis précédemment.

Hal représente un atome d'halogène,

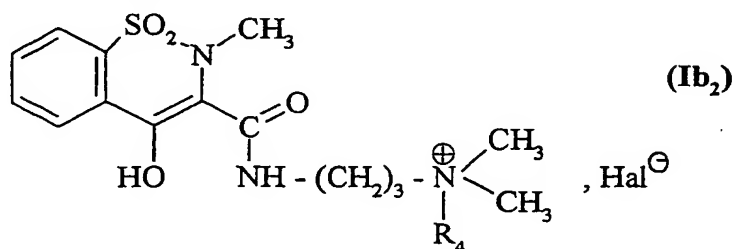
Les composés préférés de formule (Ib) utilisés à titre de principe actif sont :

* les molécules dérivées du *Piroxicam* de formule (Ib₁) :



10 dans laquelle R₄ et Hal sont tels que définis précédemment,

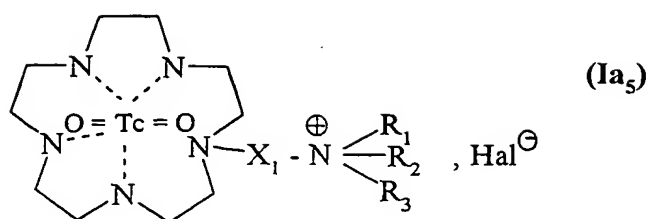
* les molécules de formule (Ib₂) :



dans laquelle R₄ et Hal sont tels que définis précédemment.

Les composés préférés de formule (Ia) utilisés à titre de réactifs de diagnostic sont les dérivés de formule (Ia₅) :

15

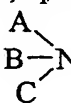


dans laquelle X₁, R₁, R₂, R₃ et Hal sont tels que définis précédemment.

L'invention concerne également le procédé de préparation des composés de formule (Ia) ou (Ib).

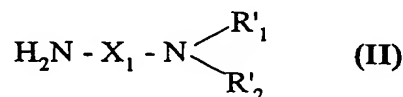
- 5 Les composés de formule (Ia) sont obtenus selon des procédés classiques de la chimie organique par fonctionnalisation en une ou plusieurs étapes, selon la nature du groupement X souhaité, d'un composé de formule M - P (dans laquelle M a la même signification que dans la formule (Ia) et P représente un atome d'hydrogène ou un groupement hydroxy) ou d'un précurseur du composé de formule M - P suivie des réactions nécessaires à la formation du composé final de formule (Ia).
- 10

Les composés de formule (Ib) sont, quant à eux, obtenus par réaction d'un halogénure d'alkyle sur un composé de formule

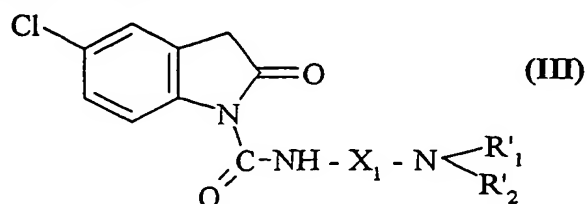


tel que défini précédemment.

- Les molécules dérivées du Tenidap de formule (Ia₁) définie précédemment sont obtenues à partir du 5-chloro-2,3-dihydro-2-oxo-1H-indole-1-carboxylate de 4-nitrophényle que l'on fait réagir avec une amine de formule (II) :
- 15

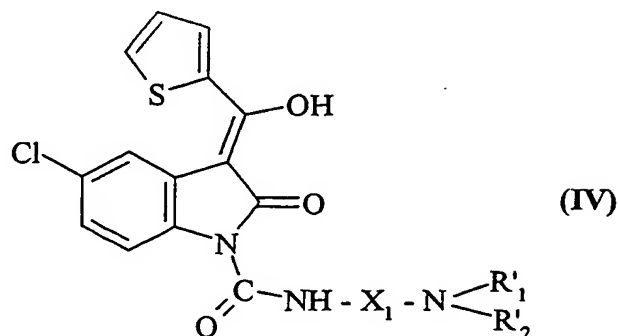


dans laquelle X₁, R'₁ et R'₂ sont tels que définis précédemment, pour conduire au composé de formule (III) :

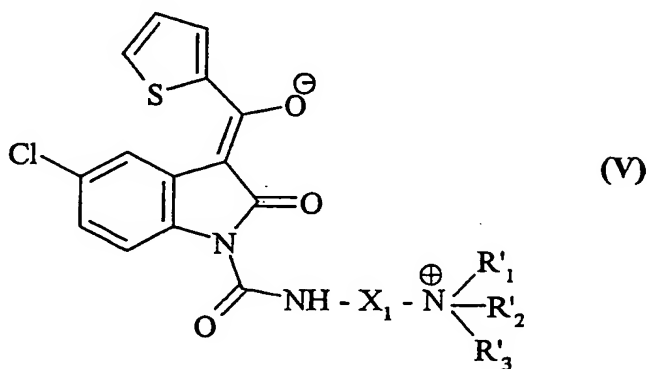


- 20 dans laquelle X₁, R'₁ et R'₂ sont tels que définis précédemment,

que l'on soumet à l'action du chlorure de 2-thényle en milieu basique sous atmosphère inerte, puis à un traitement acide, pour conduire au composé de formule (IV) :

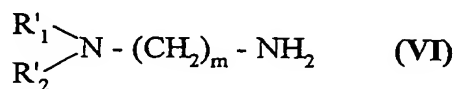


5 qui est transformé en sel de sodium correspondant, puis qui subit l'action d'un halogénure d'alkyle (C_1-C_6) linéaire ou ramifié ($R'_3\text{Hal}$), pour conduire au composé de formule (V) :

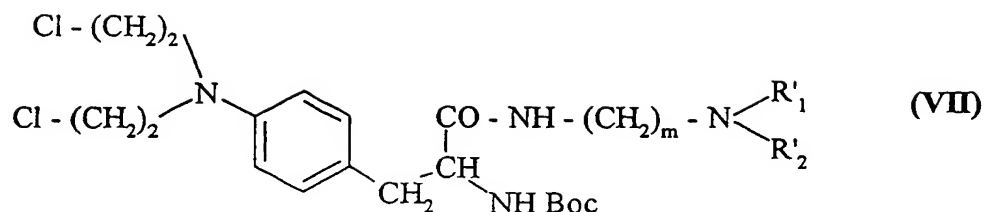


10 qui, en milieu chlorhydrique, conduit au composé de formule (Ia₁), que l'on purifie le cas échéant.

Les molécules dérivées du Melphalan de formule (Ia₂) définie précédemment sont obtenues à partir du Melphalan dont la fonction amine a été préalablement protégée par un groupement *tert*-butoxycarbonyle (Boc) avec une amine de formule (VI) en présence d'un réactif de couplage peptidique :



15 dans laquelle R'_1 , R'_2 et m sont tels que définis précédemment, pour conduire au composé de formule (VII) :

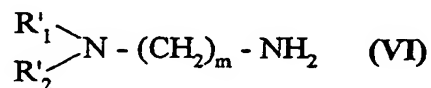


dans laquelle m, R'₁ et R'₂ sont tels que définis précédemment,
que l'on soumet à l'action d'un halogénure d'alkyle (C₁-C₆) linéaire ou ramifié, puis à un
traitement chlorhydrique,

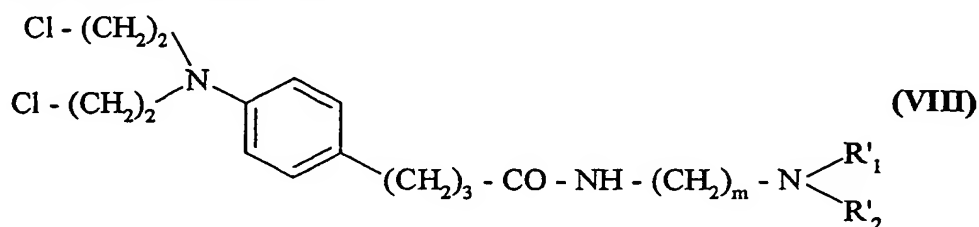
5 pour conduire au composé de formule (Ia₂) que l'on purifie le cas échéant.

Les molécules dérivées du Chlorambucil de formule (Ia₃) définie précédemment sont
obtenues à partir du Chlorambucil dont on transforme la fonction acide en chlorure d'acide
correspondant,

10 puis que l'on fait réagir avec une amine de formule (VI), en présence ou non d'un réactif de
couplage peptidique :

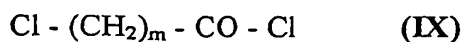


dans laquelle R'₁, R'₂ et m sont tels que définis précédemment,
pour conduire au composé de formule (VIII) :

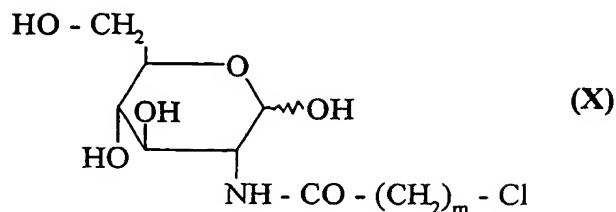


15 dans laquelle m, R'₁ et R'₂ sont tels que définis précédemment,
que l'on soumet à l'action d'un halogénure d'alkyle (C₁-C₆) linéaire ou ramifié,
pour conduire au composé de formule (Ia₂) que l'on purifie le cas échéant.

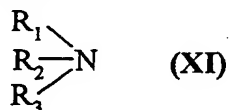
Les molécules dérivées de la Glucosamine de formule (Ia₄) définie précédemment sont
obtenues par réaction de la Glucosamine avec un chlorure d'acide de formule (IX) :



20 pour conduire au composé de formule (X) :

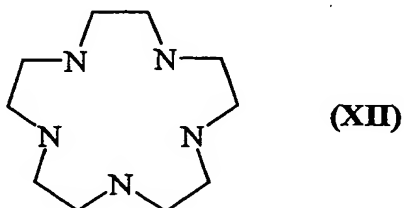


dans laquelle m est tel que défini précédemment,
que l'on condense sur une amine de formule (XI) :

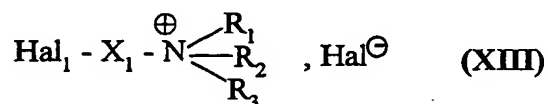


- 5 dans laquelle $\text{R}_1, \text{R}_2, \text{R}_3$ sont tels que définis précédemment,
pour conduire au composé de formule (Ia₄) que l'on purifie le cas échéant et dont on sépare
éventuellement les isomères selon une technique classique de séparation.

Les molécules de formule (Ia₅) définie précédemment sont obtenues à partir du composé
de formule (XII) :

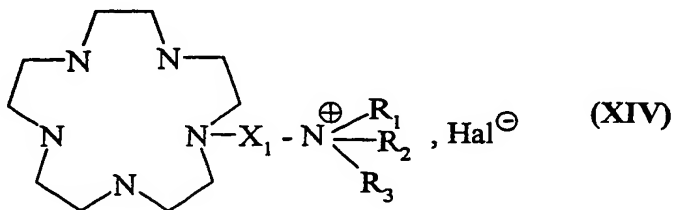


- 10 sur lequel on fait réagir un halogénure d'halogénoalkylammonium de formule (XIII) :



dans laquelle $\text{X}_1, \text{R}_1, \text{R}_2, \text{R}_3$ sont tels que définis précédemment, Hal et Hal_1 , identiques ou
différents, représentent des atomes d'halogène,

- 15 pour conduire au composé de formule (XIV) :



dans laquelle $\text{X}_1, \text{R}_1, \text{R}_2, \text{R}_3$ et Hal sont tels que définis précédemment,

que l'on fait réagir avec du pertechnéate de sodium en présence de chlorure d'étain, pour conduire au composé de formule (Ia₅) que l'on purifie le cas échéant.

Les molécules dérivées du Piroxicam de formule (Ib₁) définie précédemment sont obtenues à partir du Piroxicam sur lequel on fait réagir un halogénure d'alkyle (C₁-C₆) linéaire ou ramifié, que l'on purifie le cas échéant.

Les molécules de formule (Ib₂) définie précédemment sont obtenues à partir de l'amine correspondante sur laquelle on fait réagir un halogénure d'alkyle (C₁-C₆) linéaire ou ramifié, que l'on purifie le cas échéant.

Les dérivés de la présente invention ont démontré lors d'études biologiques un tropisme renforcé pour les tissus cartilagineux. Ces molécules fonctionnalisées par la fonction ammonium quaternaire ont, d'autre part, des comportements pharmaceutiques très différents de celui des molécules non fonctionnalisées.

Il a été notamment observé une concentration plus élevée dans les cartilages jusqu'à 1 heure après administration.

L'invention s'étend aussi aux compositions pharmaceutiques renfermant comme principe actif au moins un composé de formule (I) avec un ou plusieurs excipients inertes, non toxiques et appropriés. Parmi les compositions pharmaceutiques selon l'invention, on pourra citer plus particulièrement celles qui conviennent pour l'administration orale, parentérale (intraveineuse ou sous-cutanée), nasale, les comprimés simples ou dragéifiés, les comprimés sublinguaux, les gélules, les tablettes, les suppositoires, les crèmes, les pommades, les gels dermiques, les préparations injectables, les suspensions buvables, etc...

La posologie utile est adaptable selon la nature et la sévérité de l'affection, la voie d'administration ainsi que selon l'âge et le poids du patient. Cette posologie varie également selon la nature du composé utilisé.

Les exemples suivants illustrent l'invention mais ne la limitent en aucune façon.

Les produits de départ utilisés sont des produits connus ou préparés selon des modes opératoires connus.

Les structures des composés décrits dans les exemples ont été déterminées selon les techniques spectroscopiques usuelles (infrarouge, RMN, spectrométrie de masse...).

EXEMPLE 1 : Chlorure de {3-[(*Z*)-5-chloro-2,3-dihydro-3-(hydroxy-2-thiénylméthylène)-2-oxo-1*H*-indol-1-yle]carbonylamino}propyl} triméthylammonium

STADE A : *N*-[3-(Diméthylamino)propyl]-5-chloro-2,3-dihydro-2-oxo-1*H*-indole-1-carboxamide

A une solution contenant 12,08 mmoles de 5-chloro-2,3-dihydro-2-oxo-1*H*-indole-1-carboxylate de 4-nitrophényle dans 70 ml de dichlorométhane, est ajoutée à température ambiante, 12,08 mmoles de 3-(diméthylamino)propylamine. La réaction est immédiate. Après extraction de cette solution par une solution de soude 0,05N jusqu'à ce que la phase aqueuse ne présente plus de coloration jaune, la phase organique est ensuite séchée, filtrée et évaporée sous pression réduite. Le composé attendu est isolé sous forme d'un solide brun.

Point de fusion : 84-85°C

STADE B : (*Z*)-*N*-[3-(Diméthylamino)propyl]-5-chloro-2,3-dihydro-3-(hydroxy-2-thiénylméthylène)-2-oxo-1*H*-indole-1-carboxamide, chlorhydrate

A une solution placée à 0°C contenant 7,44 mmoles du composé obtenu au stade précédent et 186 mg de 4-*N,N*-diméthylaminopyridine dans 5 ml de diméthylformamide sont ajoutés, sous atmosphère d'argon, 2,10 ml de triéthylamine et 7,44 mmoles de chlorure de 2-thénioyle. Le mélange réactionnel est laissé sous agitation à température ambiante pendant 3 heures. Après addition de 4 ml de méthanol puis 4 ml d'acide chlorhydrique

37 %, le mélange est encore agité une heure à température ambiante puis filtré. Le solide jaune obtenu est lavé à l'eau glacée et séché, et conduit au produit attendu.

Point de fusion : 197-198°C (dec.)

STADE C : (Z)-N-[3-(Diméthylamino)propyl]-5-chloro-2,3-dihydro-3-(hydroxy-2-thiénylméthylène)-2-oxo-1H-indole-1-carboxamide, sel de sodium

Une suspension contenant 2,49 mmoles du produit obtenu au stade précédent et 1,25 mmoles de Na₂CO₃ dans 70 ml de méthanol est maintenue sous agitation à température ambiante pendant 5 heures. Le milieu réactionnel est ensuite concentré sous pression réduite et filtré. Le précipité est lavé à l'eau glacée et séché. Le produit obtenu est à nouveau traité par Na₂CO₃ en milieu méthanolique à température ambiante pendant 30 mn. Après évaporation, lavage du résidu au méthanol et séchage, on obtient le produit attendu.

Point de fusion : 211-212°C (dec.)

STADE D : (Z)-(5-Chloro-1,2-dihydro-2-oxo-1-[[3-(triméthylammonio)propyl]aminocarbonyl]-3H-indol-3-ylidène)-2-thiénylméthanolate

A une solution contenant 2,22 mmoles du composé obtenu au stade précédent dans 30 ml de méthanol est ajouté, sous atmosphère d'argon, 3,33 mmoles d'iodure de méthyle. Le mélange est laissé 3 heures à température ambiante. Le produit attendu précipitant sous la forme d'un solide jaune au fur et à mesure de l'avancement de la réaction, est isolé par filtration, lavé au méthanol et à l'éther, et séché.

Point de fusion : 260-261°C (dec.)

STADE E : Chlorure de {3-[(Z)-5-chloro-2,3-dihydro-3-(hydroxy-2-thiénylméthylène)-2-oxo-1H-indol-1-yle]carbonylamino}propyl} triméthylammonium

A une solution contenant 0,95 mmole de produit obtenu au stade précédent dans 7 ml de diméthylformamide, est ajouté 2,5 ml d'éther chlorhydrique 2N. Le mélange réactionnel est

agité 10 minutes à température ambiante. La solution obtenue est ensuite jetée dans 100 ml d'éther. Le précipité jaune alors obtenu est immédiatement filtré, lavé abondamment à l'éther et séché.

Point de fusion : 209-211°C

5 **EXEMPLE 2** : {3-{{4-[bis(2-Chloroéthyl)amino]-L-phénylalanyl}amino}propyl}
triméthylammonium, chlorhydrate

STADE A : 1-{{N-*tert*-butyloxycarbonyl-4-[bis(2-chloroéthyl)amino]-L-phényl-
alanyl}amino}-3-(diméthylamino)propane

10 A une solution contenant 1,32 mmoles de chlorhydrate de Melphalan dans 7 ml de
méthanol sont successivement ajoutés, à température ambiante, 2,7 mmoles de
triéthylamine et 1,98 mmoles de dicarbonate de di-*tert*-butyle. Le mélange est ensuite placé
à 30-40°C. Dès que la solubilisation a lieu, la solution est laissée sous agitation 30 minutes
à température ambiante puis est évaporée sous pression réduite. Le résidu obtenu est traité
15 alors immédiatement extraite avec de l'acétate d'éthyle. La phase organique est ensuite
séchée, filtrée et concentrée sous pression réduite. L'intermédiaire ainsi obtenu est repris
par 10 ml de dichlorométhane. A cette solution sont successivement ajoutés 1,33 mmoles
de 1-hydroxybenzotriazole et 1,33 mmoles de 3-(diméthylamino)propylamine. Une
solution contenant 1,33 mmoles de dicyclohexylcarbodiimide dans 10 ml de
20 dichlorométhane est ensuite additionnée au mélange précédent. Le milieu réactionnel est
laissé sous agitation à température ambiante pendant 5 heures. L'urée formée est isolée par
filtration. Le filtrat est ensuite extrait avec une solution de NaHCO₃ 1N puis lavé à l'eau.
La phase organique est séchée, filtrée et évaporée sous pression réduite. Le résidu obtenu
est ensuite purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant : dichlorométhane/éthanol,
25 1/1 puis dichlorométhane/éthanol/ammoniaque, 50/49/1). Le composé attendu est isolé
sous forme d'une huile qui cristallise.

Point de fusion : 80-82°C (déc.)

STADE B : I dure de {3-{{N-*tert*-butyloxycarbonyl-4-[bis(2-chloroéthyl)amino]-L-phénylalananyl}amino}propyl}triméthylammonium

A une solution contenant 0,61 mmole du composé décrit au stade A dans 5 ml d'éthanol est ajouté sous atmosphère inerte 0,92 mmole d'iodure de méthyle. Le mélange réactionnel est
5 laissé trois heures à température ambiante puis est concentré sous pression réduite. Le résidu obtenu est repris par le minimum de méthanol puis est jeté dans une solution étherée. Le produit attendu est isolé sous la forme d'un solide très hygroscopique par filtration, lavage à l'éther et séchage.

Point de fusion : 139-142°C

10 **STADE C : {3-{{ 4-[bis(2-Chloroéthyl) amino]-L-phénylalananyl}amino}propyl} triméthylammonium, chlorhydrate**

0,148 mmole du produit obtenu au stade B est traité par 10 ml d'éthanol chlorhydrique 2N à température ambiante pendant deux heures. La solution est ensuite évaporée sous pression réduite. Le résidu obtenu est solubilisé dans 50 ml de méthanol et passé sur résine
15 pendant quelques minutes. Les fractions méthanoliques sont évaporées sous pression réduite. Le résidu obtenu est repris par le minimum de méthanol et est jeté dans une solution étherée. Le produit attendu est isolé sous la forme d'un solide blanc-beige très hygroscopique par filtration, lavage à l'éther et séchage.

Point de fusion : 115-120°C

20 Pouvoir rotatoire : $[\alpha]_D^{25} = + 49,2^\circ$ ($c = 1,04 \%$, HCl 1N)

EXEMPLE 3 : Iodure de {3-{{4-[bis(2-chloroéthyl)amino]phényl}butanoyl} amino}propyl}triméthylammonium

STADE A : N-[3-(Diméthylamino)propyl]-4-{4-[bis(2-chloroéthyl)amino]phényl} butyramide

25 A une solution contenant 1,61 mmoles de chlorambucil dans 5 ml de dichlorométhane est ajouté, sous atmosphère inerte à 0°C, 1,25 ml de chlorure de thionyle. Le mélange

réactionnel est laissé sous agitation à 4°C pendant 16 heures puis l'excès de SOCl₂ est évaporé sous pression réduite. Le résidu obtenu est repris par 10 ml de dichlorométhane. A cette solution est ajoutée, à 0°C et sous atmosphère inerte, 1,61 mmoles de 3-(diméthylamino)propylamine solubilisée dans 10 ml de dichlorométhane. Le mélange est ensuite agité à température ambiante pendant 1 heure. Au bout de ce temps, une seconde addition de 1,61 mmoles de diamine est réalisée. Après 4 heures d'agitation, le milieu réactionnel est évaporé sous pression réduite. Après neutralisation par une solution de NaHCO₃ 1N, la phase aqueuse est extraite plusieurs fois au dichlorométhane. Les différentes phases organiques sont regroupées, lavées à l'eau jusqu'à neutralité, séchées, filtrées et évaporées sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant : gradient d'éthanol dans le dichlorométhane allant de 0 à 50 % puis pour finir utilisation de l'éluant : dichlorométhane/éthanol/ammoniaque, 50/49/1). Le produit attendu est ainsi obtenu sous la forme d'une huile.

STADE B : Iodure de {3-{{4-[4-[bis(2-chloroéthyl)amino]phényl]butanoyl}amino}propyl}triméthylammonium

A une solution contenant 1,34 mmoles du composé obtenu au stade précédent dans 7 ml d'éthanol est ajouté, sous atmosphère inerte, 1,01 mmole d'iodure de méthyle. Le mélange est agité à température ambiante pendant 3 heures puis est évaporé sous pression réduite. L'huile obtenue est reprise par le minimum de méthanol. Cette solution est alors jetée dans 150 ml d'éther et agitée à 0°C pendant 1 heure. Le précipité formé est ensuite filtré. Après lavage à l'éther et séchage, le produit attendu est obtenu sous la forme d'un solide beige très hygroscopique.

Point de fusion : 118-120°C (dec.)

EXEMPLE 4 : Chlorure de 2-(N,N,N-triméthylammonioacétamido)-2-déoxy- α,β -D-glucopyranose

STADE A : 2-Chloroacétamido-2-déoxy- α,β -D-glucopyranose

A une solution refroidie à 0°C contenant 23,2 mmoles de chlorhydrate de glucosamine et de 40 mmol de K₂CO₃ dans 40 ml d'eau distillée, sont ajoutées goutte à goutte 46,4 mmoles de chlorure de chloroéthanoyle. L'agitation est poursuivie 1 heure. Après évaporation sous pression réduite de la solution aqueuse, le solide obtenu est lavé plusieurs fois à l'éthanol. La phase éthanolique est alors concentrée sous pression réduite jusqu'à précipitation d'un solide blanc. Après avoir été suffisamment refroidie à 0°C, la solution est filtrée. Le solide blanc obtenu est trituré à l'acétone et séché, et conduit au produit attendu après recristallisation dans l'éthanol.

Point de fusion : 183-185°C

STADE B : Chlorure de 2-(N,N,N-triméthylammonioacétamido)-2-déoxy- α,β -D-glucopyranose

9,8 mmoles du composé obtenu au stade précédent et 10 ml d'une solution éthanolique de triéthylamine 4M sont placées sous atmosphère inerte pendant 3 jours à 40°C. Le produit attendu est obtenu par filtration du précipité formé suivie d'un lavage à l'éthanol, à l'éther et séchage.

Point de fusion : 240-242°C.

EXEMPLE 5 : Chlorure de 2-(pyridinioacétamido)-2-déoxy- α,β -D-glucopyranose

9,8 mmoles du composé obtenu au stade A de l'exemple 4 sont placées dans 50 ml de pyridine sous atmosphère inerte, à 40°C, pendant 3 jours. La pyridine est alors évaporée sous vide et le produit attendu est obtenu par lavage à l'éthanol, à l'éther et séchage.

Point de fusion : 223-225°C

EXEMPLE 6 : Iodure de {3-[(4-hydroxy-2-méthyl-1,1-dioxy-2H-1,2-benzothiazin-3-yl)carboxamido]propyl}triméthylammonium

3,39 moles du N-[3-(diméthylamino)propyl]-4-hydroxy-2-méthyl-1,1-dioxy-2H-1,2-benzothiazin-3-yl]carboxamide sont chauffées sous argon à 80°C pendant 24 heures en

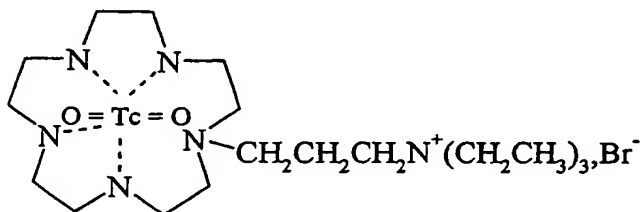
présence de 3 ml d'iodométhane. Après refroidissement, le précipité obtenu est filtré, lavé à l'acétone et séché pour conduire au produit attendu.

Point de fusion : 220-222°C (déc.)

EXEMPLE 7 : Iodure de 2-[(4-hydroxy-2-méthyl-1,1-dioxo-2H-1,2-benzothiazin-3-yl)carboxamido]-N-méthylpyridinium

Le produit attendu est obtenu par réaction du Piroxicam avec de la pyridine selon le procédé décrit dans l'exemple 6.

EXEMPLE 8 : Bromure de [15]ane-N5-(N-3-propyl)triéthylammonium, chlorhydrate marqué au Technétium

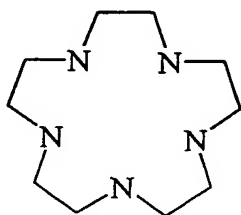


STADE A : Bromure de [15]ane-N5-(N-3-propyl)triéthylammonium, chlorhydrate

A 10 mmoles de [15ane]-N5^(*) en solution dans 50 ml d'eau désionisée, sont ajoutées 10 mmoles (3-bromopropyl)triéthylammonium. Après chauffage à 90°C pendant 12 heures sous atmosphère inerte, l'eau est évaporée. Le solide huileux est lavé deux fois au dichlorométhane, puis dissous dans 100 ml d'éthanol. Le traitement par 4 ml d'HCl 10N ajoutés, goutte à goutte, tout en refroidissant le ballon à 0°C, donne un précipité blanc, floconneux qui est filtré, lavé à l'alcool puis à l'éther et séché, et conduit au produit attendu.

Point de fusion : > 200°C (déc.)

(*)[15ane]-N5 :



**STADE B : Bromure de [15]ane-N5-(N-3-propyl)triéthylammonium, chlorhydrate
marqué au Technétium**

Le marquage par le Technétium du composé obtenu au stade A se fait au sein d'un flacon stérile sous vide, d'une contenance de 15 ml, dans lequel on introduit :

- 5 - une solution de 7,5 mmoles du produit obtenu au stade A dans 1 ml de sérum physiologique,
- le pertechnétate de sodium ($^{99m}\text{TcO}_4^-$, 25 mCi ; 925 MBq) en solution dans 1 ml de sérum physiologique ; le flacon est chauffé 5 minutes à 85°C (bain métallique),
- 10 - une solution aqueuse désoxygénée de $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (9 mmoles), préparée extemporanément.

Le marquage s'effectue par chauffage 30 minutes à 85°C.

ETUDE PHARMACOLOGIQUE
DES DERIVES DE L'INVENTION

Etude pharmacocinétique : étude de la distribution tissulaire

- 15 Cette étude a été réalisée avec des molécules marquées au ^{14}C . L'étude de la distribution tissulaire a été réalisée par mesure directe de la radioactivité sur des coupes de corps entier selon la méthode suivante : des rats mâles de souche Sprague-Dawley ont reçu par voie intraveineuse ou par voie orale une dose de molécule marquée. Les animaux ont ensuite été sacrifiés à des temps allant de 5 mn à 24 h. par inhalation d'éther et congelés dans l'azote
- 20 liquide.

Des coupes ont alors été préparées avec un cryomicrotome et après dessiccation, la répartition de la radioactivité a été mesurée à l'aide d'un analyseur d'images.

Les résultats obtenus avec les dérivés de l'invention montrent que ces composés ont un tropisme renforcé pour les tissus cartilagineux.

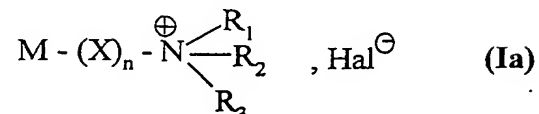
Pour les composés des exemples 4 et 5, en dehors du rein, organe d'élimination fixant des quantités importantes de radioactivité dès les premières minutes suivant l'injection, le cartilage, et à moindre degré la peau, sont les seules cibles. Lorsque la même étude est réalisée avec la glucosamine non fonctionnalisée, le foie est l'organe cible prépondérant.

5. Pour le composé de l'exemple 6, le cartilage présente une affinité beaucoup plus élevée que les tissus environnants. Le maximum de fixation est obtenu 5 mn après injection. Lorsque cette étude est réalisée après administration par voie orale de la molécule marquée, il est également observé une très forte affinité pour le cartilage.

10 Le composé de l'exemple 8, quant à lui, se concentre de façon élevée dans les tissus cartilagineux 10 mn après injection.

REVENDICATIONS

1- Composés de formule (Ia) ou (Ib) :



dans laquelle :

5 M représente une molécule utilisable pour la thérapie ou le diagnostic des pathologies dues à une atteinte du cartilage,

R_1, R_2, R_3 , identiques ou différents, représentent un groupement alkyle (C_1-C_6) linéaire ou ramifié,

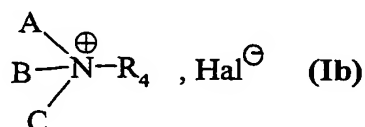
10 ou R_1, R_2, R_3 pris ensemble avec l'atome d'azote qui les porte forment un hétérocycle azoté saturé ou insaturé,

X représente une chaîne alkylène (C_1-C_6) linéaire ou ramifiée dans laquelle un ou plusieurs groupements $-CH_2-$ sont éventuellement remplacés par un atome de soufre, d'oxygène, un groupement $-NR-$ (dans lequel R représente un groupement alkyle (C_1-C_6) linéaire ou ramifié), un groupement $-CO-$, un groupement $-CO-NH-$, un

15 n représente 0 ou 1,

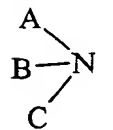
Hal représente un atome d'halogène,

ou,



20 R_4 représente un groupement alkyle (C_1-C_6) linéaire ou ramifié,

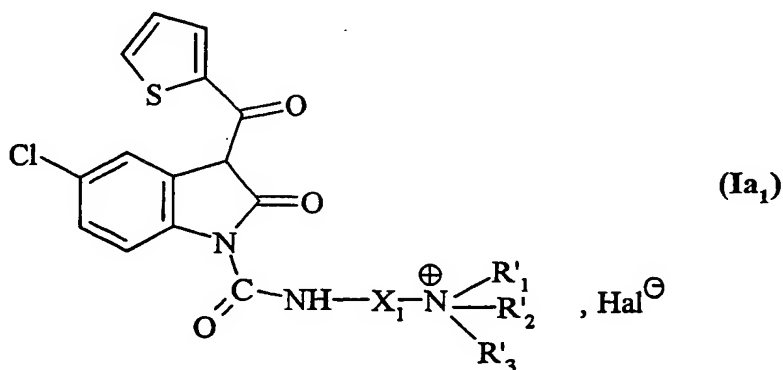
Hal représente un atome d'halogène,



représente une molécule utilisable pour la thérapie ou le diagnostic des pathologies dues à une atteinte du cartilage, étant entendu que l'atome d'azote peut être éventuellement inclus dans un système hétérocyclique azoté saturé ou insaturé, ou engagé dans une double liaison.

2- Composé de formule (I) selon la revendication 1 caractérisé en ce que la molécule M ou $\begin{matrix} A \\ B \diagup \\ C \end{matrix} N$ utilisable pour la thérapie des pathologies dues à une atteinte du cartilage est un antiinflammatoire, un analgésique, un antiarthrosique, un antiarthritique, ou un antitumoral spécifique.

3- Composé de formule (I) selon la revendication 1 tel qu'il est représenté pour la formule (Ia₁) :



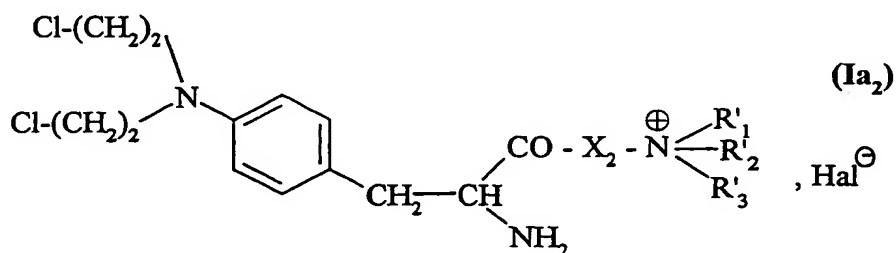
dans laquelle :

X₁ représente un groupement alkylène (C₁-C₆) linéaire ou ramifié,

R'₁, R'₂, R'₃, identiques ou différents, représentent un groupement alkyle (C₁-C₆) linéaire ou ramifié,

Hal représente un atome d'halogène.

4- Composé de formule (I) selon la revendication 1 tel qu'il est représenté par la formule (Ia₂) :



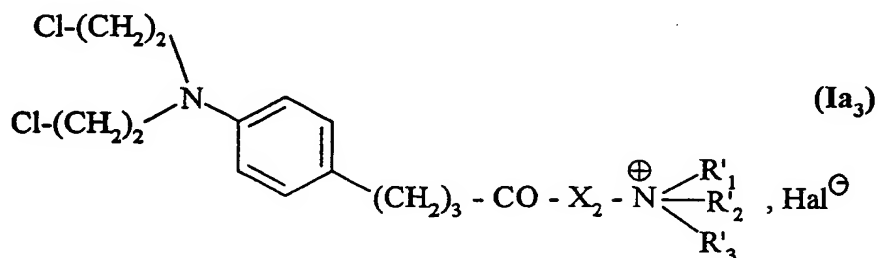
dans laquelle :

X₂ représente un groupement -NH-(CH₂)_m- dans lequel m représente un nombre entier compris entre 1 et 5 inclus,

R'_1, R'_2, R'_3 , identiques ou différents, représentent un groupement alkyle (C_1-C_6) linéaire ou ramifié,

Hal représente un atome d'halogène.

5- Composé de formule (I) selon la revendication 1 tel qu'il est représenté par la formule (Ia₃) :



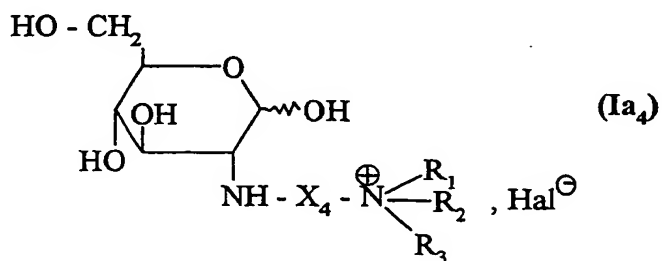
dans laquelle :

X_2 représente un groupement $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_m-$ dans lequel m représente un nombre entier compris entre 1 et 5 inclus,

R'_1, R'_2, R'_3 , identiques ou différents, représentent un groupement alkyle (C_1-C_6) linéaire ou ramifié,

Hal représente un atome d'halogène.

6- Composé de formule (I) selon la revendication 1 tel qu'il est représenté par la formule (Ia₄) :



dans laquelle :

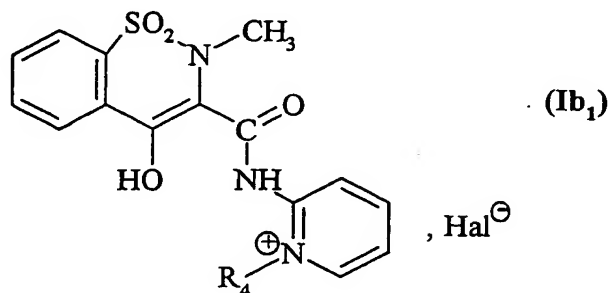
X_4 représente un groupement $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_m-$ dans lequel m représente un nombre entier compris entre 1 et 5 inclus,

R_1, R_2, R_3 , identiques ou différents, représentent un groupement alkyle (C_1-C_6) linéaire ou ramifié,

ou R_1 , R_2 , R_3 pris ensemble avec l'atome d'azote qui les porte forment un hétérocycle azoté saturé ou insaturé,

Hal représente un atome d'halogène.

7- Composé de formule (I) selon la revendication 1 tel qu'il est représenté par la formule (Ib₁) :

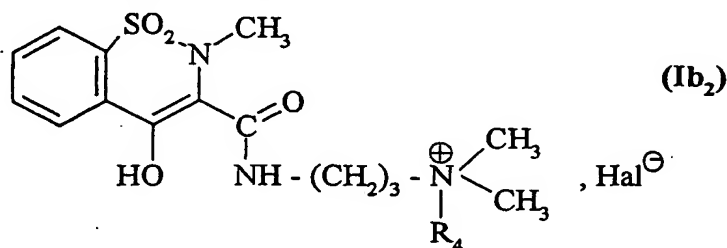


dans laquelle :

R_4 représente un groupement alkyle (C_1 - C_6) linéaire ou ramifié,

Hal représente un atome d'halogène.

8- Composé de formule (I) selon la revendication 1 tel qu'il est représenté par la formule (Ib₂) :

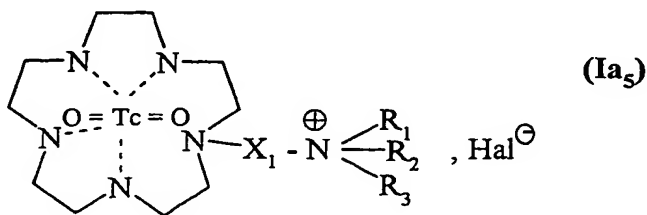


dans laquelle :

R_4 représente un groupement alkyle (C_1 - C_6) linéaire ou ramifié,

Hal représente un atome d'halogène.

9- Composé de formule (I) selon la revendication 1 tel qu'il est représenté par la formule (Ia₅) :



dans laquelle :

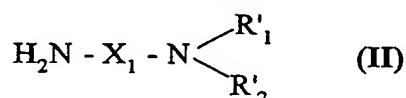
X_1 représente un groupement alkylène (C_1-C_6) linéaire ou ramifié,

R_1, R_2, R_3 , identiques ou différents, représentent un groupement alkyle (C_1-C_6) linéaire ou ramifié,

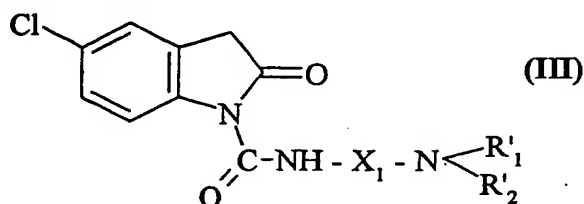
ou R_1, R_2, R_3 pris ensemble avec l'atome d'azote qui les porte forment un hétérocycle azoté saturé ou insaturé,

Hal représente un atome d'halogène.

10- Procédé de préparation des composés de formule (Ia₁) selon la revendication 3 caractérisé en ce qu'ils sont obtenus à partir du 5-chloro-2,3-dihydro-2-oxo-1*H*-indole-1-carboxylate de 4-nitrophényle que l'on fait réagir avec une amine de formule (II) :



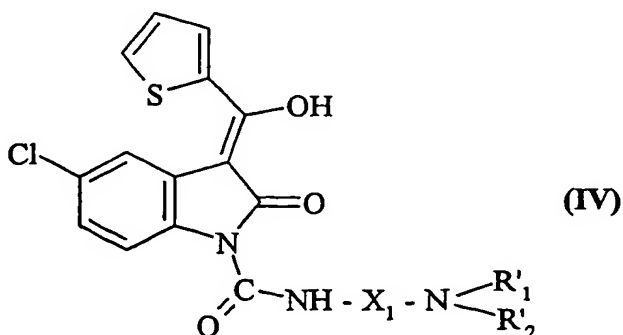
dans laquelle X_1, R'_1 et R'_2 sont tels que définis dans la revendication 3, pour conduire au composé de formule (III) :



dans laquelle X_1, R'_1 et R'_2 sont tels que définis précédemment,

que l'on soumet à l'action du chlorure de 2-thényle en milieu basique sous atmosphère inerte, puis à un traitement acide,

pour conduire au composé de formule (IV) :

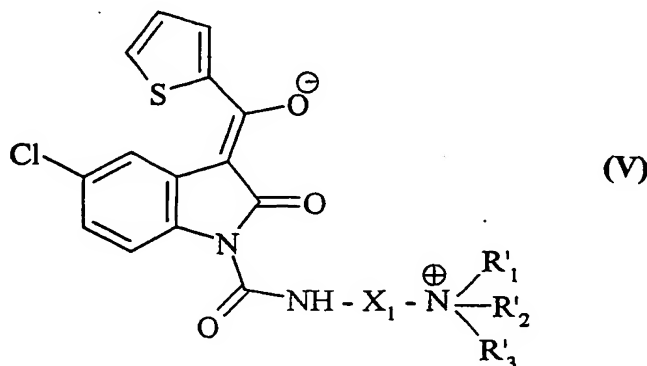


dans laquelle X_1, R'_1 , et R'_2 sont tels que définis précédemment,

qui est transformé en sel de sodium correspondant,

puis qui subit l'action d'un halogénure d'alkyle (C_1-C_6) linéaire ou ramifié de formule $R'_3\text{Hal}$ (dans laquelle R'_3 est tel que défini précédemment et Hal représente un atome d'halogène),

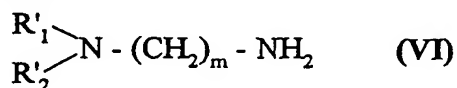
pour conduire au composé de formule (V) :



dans laquelle X_1 , R'_1 , R'_2 et R'_3 sont tels que définis précédemment,

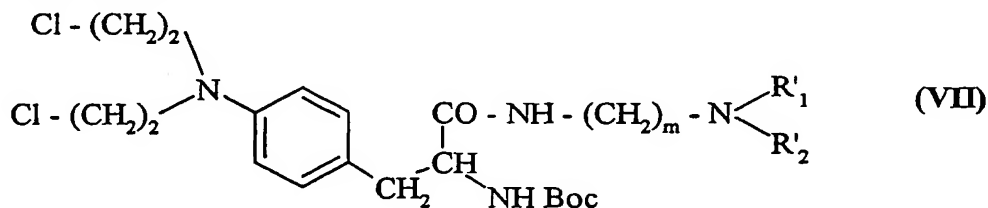
qui, en milieu chlorhydrique, conduit au composé de formule (Ia₁), que l'on purifie le cas échéant.

11- Procédé de préparation des composés de formule (Ia₂) selon la revendication 4 caractérisé en ce qu'ils sont obtenus à partir du Melphalan dont la fonction amine a été préalablement protégée par un groupement *tert*-butoxycarbonyle (Boc) avec une amine de formule (VI) en présence d'un réactif de couplage peptidique :



dans laquelle R'_1 , R'_2 et m sont tels que définis dans la revendication 4,

pour conduire au composé de formule (VII) :



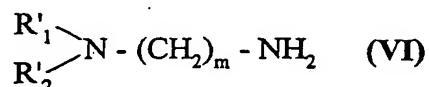
dans laquelle m , R'_1 et R'_2 sont tels que définis précédemment,

que l'on soumet à l'action d'un halogénure d'alkyle (C_1-C_6) linéaire ou ramifié de formule $R'_3\text{Hal}$ (dans laquelle R'_3 est tel que défini précédemment et Hal représente un atome d'halogène), puis à un traitement chlorhydrique,

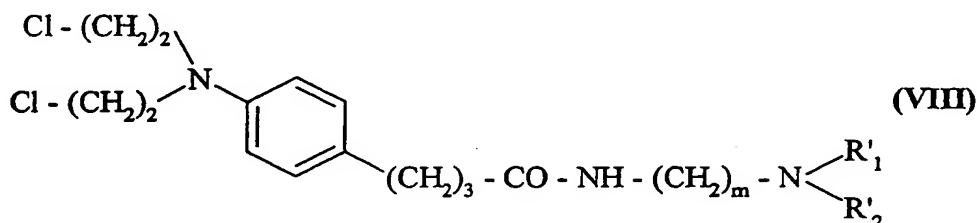
pour conduire au composé de formule (Ia₂) que l'on purifie le cas échéant.

12- Procédé de préparation des composés de formule (Ia₃) selon la revendication 5 caractérisé en ce qu'ils sont obtenus à partir du Chlorambucil dont on transforme la fonction acide en chlorure d'acide correspondant,

5 puis que l'on fait réagir avec une amine de formule (VI), en présence ou non d'un réactif de couplage peptidique :



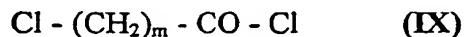
dans laquelle R'₁, R'₂ et m sont tels que définis dans la revendication 5, pour conduire au composé de formule (VIII) :



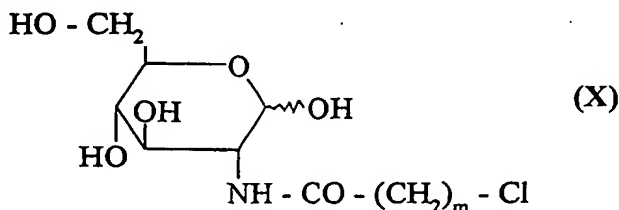
10 dans laquelle m, R'₁ et R'₂ sont tels que définis précédemment, que l'on soumet à l'action d'un halogénure d'alkyle (C₁-C₆) linéaire ou ramifié de formule R'₃Hal (dans laquelle R'₃ est tel que défini précédemment et Hal représente un atome d'halogène),

15 pour conduire au composé de formule (Ia₂) que l'on purifie le cas échéant.

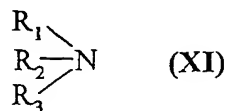
13- Procédé de préparation des composés de formule (Ia₄) selon la revendication 6 caractérisé en ce qu'ils sont obtenus par réaction de la Glucosamine avec un chlorure d'acide de formule (IX) :



20 dans laquelle m est tel que défini dans la revendication 6, pour conduire au composé de formule (X) :

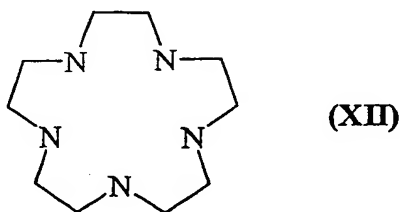


dans laquelle m est tel que défini précédemment,
que l'on condense sur une amine de formule (XI) :

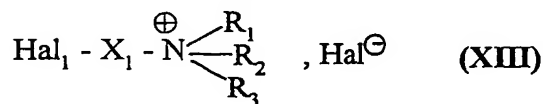


dans laquelle R_1 , R_2 , R_3 sont tels que définis dans la revendication 6,
pour conduire au composé de formule (Ia₄) que l'on purifie le cas échéant et dont on sépare
éventuellement les isomères selon une technique classique de séparation.

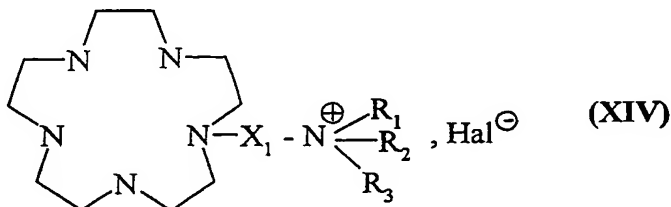
14- Procédé de préparation des composés de formule (Ia₅) selon la revendication 9
caractérisé en ce qu'ils sont obtenus à partir du composé de formule (XII) :



sur lequel on fait réagir un halogénure d'halogénoalkylammonium de formule (XIII) :



dans laquelle X_1 , R_1 , R_2 , R_3 sont tels que définis dans la revendication 9, Hal et Hal_1 ,
identiques ou différents, représentent des atomes d'halogène,
pour conduire au composé de formule (XIV) :



dans laquelle X_1 , R_1 , R_2 , R_3 et Hal sont tels que définis précédemment,
que l'on fait réagir avec du pertechnéate de sodium en présence de chlorure d'étain,
pour conduire au composé de formule (Ia₅) que l'on purifie le cas échéant.

15- Procédé de préparation des composés de formule (Ib₁) selon la revendication 7 caractérisé en ce qu'ils sont obtenus à partir du Piroxicam sur lequel on fait réagir un halogénure d'alkyle (C₁-C₆) linéaire ou ramifié, que l'on purifie le cas échéant.

5 **16-** Procédé de préparation des composés de formule (Ib₂) selon la revendication 8 caractérisé en ce qu'ils sont obtenus à partir de l'amine correspondante sur laquelle on fait réagir un halogénure d'alkyle (C₁-C₆) linéaire ou ramifié, que l'on purifie le cas échéant.

17- Composition pharmaceutique contenant comme principe actif un composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 9 seul ou en combinaison avec un ou plusieurs excipients ou véhicules inertes non toxiques, pharmaceutiquement acceptables.

10 **18-** Composition pharmaceutique selon la revendication 17 contenant un composé selon l'une des revendications 1 à 8 utile pour le traitement des pathologies dues à une atteinte du cartilage.

15 **19-** Composition pharmaceutique selon la revendication 17 contenant un composé selon l'une des revendications 1 ou 9 utile à titre de réactif de diagnostic capable de révéler une pathologie du cartilage ou un métabolisme.